Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

DIE AUSSCHEIDUNG DER ENZYME LAP, LDH UND ALKALISCHE PHOSPHATASE IM HARN NACH GABE VON PHENACETIN UND ACETYLSALICYLSÄURE

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Thomas Frenzel

aus Bayreuth

Würzburg, den 21. 6. 1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0098

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

DIE AUSSCHEIDUNG DER ENZYME LAP, LDH UND ALKALISCHE PHOSPHATASE IM HARN NACH GABE VON PHENACETIN UND ACETYLSALICYLSÄURE

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Thomas Frenzel

aus Bayreuth

Würzburg, den 21. 6. 1972

Referent: Priv. Doz. Dr. W. Strik

Korreferent: Professor Dr. H. Franke

Dekan: Professor Dr. K. H. Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 10. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

In Dankbarkeit meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Methodik	2
	1. Auswahl der Probanden und Sammlung des Urins	2
	2. Durchführung der Dialyse	3
	a) Vorbedingungen und Technik	3
	b) Bestimmung der U-LDH	5
	c) Bestimmung der U-LAP	5
	d) Bestimmung der U-AP	6
	3. Berechnung der Enzymaktivitäten	6
III.	Ergebnisse	8
IV.	Diskussion	17
V.	Zusammenfassung	22
VI.	Literaturverzeichnis	I-IV

Zusammenfassung der in der Arbeit verwendeten Abkürzungen

U-AP	Alkalische Phosphatase im Urin
U-LAP	Leucinaminopeptidase im Urin
U-LDH	Lactatdehydrogenase im Urin
DPN	= NAD = Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid
A	Gesamtaktivität im 8-Stunden-Urin
a	Enzymaktivität in mE/ml Urin
V	Volumen des 8-Stunden-Urins
Q	Gewichtszunahmequotient
mU/ml	Millieinheit pro Milliliter
n	Zahl der Versuchspersonen
p	Wahrscheinlichkeit
σ	mittlere Standardabweichung
σ_d	Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen
$\sigma_{\bar{x}}$	mittlerer Fehler des Mittelwertes
t	Prüfquotient
x	Differenz von Maximalwert und Leerwert
$\bar{x}$	Mittelwert der Paardifferenzen

I. EINLEITUNG

Die Enzymaktivitäten des Harnes entstammen im Wesentlichen drei Quellen: dem Serum (Filtration kleinmolekularer Enzyme), der Niere (Tubuluszellen) und den Anhangdrüsen des Urogenitaltraktes (z. B. Prostata). An dieser Stelle sei gleich darauf hingewiesen, daß die Enzymaktivitäten der Epithelien des Urogenitaltraktes bei der Untersuchung des Harnes praktisch bedeutungslos sind.

Im Hinblick auf die Nierenpathologie kommt den aus den Tubuluszellen stammenden Enzymaktivitäten des Harnes die größte Bedeutung zu (33). Physiologischerweise gelangen diese Enzyme durch Permeation an den Bürstensaum und durch Zellerneuerung der Tubuli in den Harn. Bei Störungen der Permeabilität (vaskulärer Schock) oder bei toxisch degenerativer Schädigung der Tubuluszellen (Natriumtetrathionat, Sublimat, tierische Gifte) erfolgt eine Steigerung der aus den Nierenzellen stammenden Enzymaktivitäten im Harn. Durch Bestimmung der renalen Enzymausscheidung (renale Enzymurie) wollten wir der Frage nach dem Ausmaß der Nephrotoxizität von Analgetika nachgehen. Hierzu verwendeten wir die beiden gebräuchlichsten Analgetika, nämlich Phenacetin und Acetylsalicylsäure.

In den letzten Jahren wurde viel über die Wirkung verschiedener Analgetika auf die Niere diskutiert. Schon 1953 wiesen SPÜHLER und ZOLLINGER auf eine chronische interstitielle Nephritis hin, die mit Sklerosierung der Bindegewebsfasern des Interstitiums, vaskulären Kompressionen und in der Folge mit Papillennekrosen einhergeht. Endstadium ist die Schrumpfniere. Ihre Ursache sahen SPÜHLER und ZOLLINGER in einem chronischen Phenacetinabusus.

Wie aber steht es, wenn Phenacetin in therapeutischen Dosen eingenommen wird? Phenacetin ist dem Typus der Oxydaseinhibitoren zuzurechnen. Wenn das Cyclophorasesystem gehemmt wird, dann wird auch nicht genügend Energie in Form von ATP gespeichert. Die proximalen Tubulus-

zellen arbeiten mit geringen Energiereserven. Daher können zusätzliche Belastungen wie Regeneration nach entzündlichen oder toxischen Schäden nicht mehr ohne weiteres bestritten werden. Es kommt dann zu den oben beschriebenen Veränderungen.

Als zweites Analgetikum, das auch als Antipyretikum und Antirheumatikum genommen wird, nahmen wir Acidum acetylosalicylicum (Aspirin^{R}). Dieses Salicylat erschien besonders geeignet, da einerseits dessen seit langem bekannte nierenreizende Wirkung an Hand erheblich gesteigerter Ausscheidung tubulärer Rundzellen einfach und sicher nachweisbar ist, andererseits jedoch dieser Effekt keine nierenschädigende Folgen nach sich zieht und reversibel ist.

II. METHODIK

1. Auswahl der Probanden und Sammlung des Urins

Das Alter der von uns untersuchten Probanden lag zwischen 20 und 30 Jahren. Es wurden nur solche Probanden herangezogen, bei denen eine Nierenerkrankung einwandfrei ausgeschlossen werden konnte. Keine der Versuchspersonen hatte eine Miktionsstörung, die Harnentleerung erfolgte durch Spontanmiktion. Parallel zu jeder Analyse wurde eine Urinprobe auf Eiweiß und Sediment untersucht, wobei jedesmal das Ergebnis negativ ausfiel. Weiterhin konnte eine Beeinflussung der Enzymaktivitäten, z. B. durch Sulfonamide oder durch Röntgenkontrastmittel, ausgeschlossen werden.

Um Tagesschwankungen der Enzymaktivitäten, die von DUBACH und PADLINA (12) festgestellt wurden, zu vermeiden, und um möglichst einheitliche Bedingungen zu schaffen, führten wir die Untersuchungen

an einem 8-Stunden-Nachturin durch. Von den Probanden wurde der Urin von 23 bis 7 Uhr gehalten und dann nach der Spontanmiktion sofort untersucht. Dadurch sollte eine eventuelle Aktivitätsänderung im Urin durch Hemmstoffe oder Bakterieneinflüsse verhindert werden. Zunächst wurde von allen 10 Probanden eine Leerwertbestimmung des Urins durchgeführt. Dann wurde das Analgetikum, zunächst Phenacetin, von den selben Personen am folgenden Abend gegen 23 Uhr nach der letzten Miktion eingenommen, so daß um 7 Uhr der 8-Stunden-Nachturin untersucht werden konnte. Falls der Proband das Analgetikum später einnahm, wurde immer auf einen 8-Stunden-Nachturin umgerechnet. Die nächste Untersuchung erfolgte nach 5 Stunden und dann am folgenden Tag wieder mit einem 8-Stunden-Nachturin, und zwar solange, bis die Aktivitäten der drei untersuchten Fermente wieder im Bereich der gemessenen Ausgangswerte lagen.

Nach etwa 12 Wochen wurden bei den gleichen Personen erneut die Enzymleerwerte ermittelt und dann in derselben Weise das zweite Analgetikum, nämlich die Acetylsalicylsäure, getestet. Auch hier wurde der 8-Stunden-Nachturin als Bezugswert genommen.

2. Durchführung der Dialyse

a) Vorbedingungen und Technik

Aus Serumuntersuchungen ist bekannt, daß die Geschwindigkeit der Enzymreaktion linear mit der Zeit und proportional zur Enzymaktivität erfolgt. AMADOR (1) und DORFMANN et al. (8) fanden bei der Bestimmung der Lactatdehydrogenase im Urin, daß diese Beobachtungen für letztere nicht zutrafen. Sie nahmen deshalb Inhibitoren im Urin an. WACKER und SCHOENENBERGER haben kürzlich spezifische Inhibitoren für die LDH aus dem menschlichen Urin isoliert und weitgehend charakterisiert. Es handelt sich um zwei Peptide mit einem Molekulargewicht um 2 000. WALTERS gelang es, ein Pigment aus dem Urin gesunder, männlicher

Probanden zu isolieren, das die Aktivität der U-AP kompetitiv hemmt. Weiterhin sind sowohl Magnesium als auch Citrat als Inhibitoren bekannt; die wichtigsten scheinen jedoch nach HILLIARD et al. anorganische Phosphate zu sein. Später fanden AMADOR und DORMANN, daß durch eine vorherige Dialyse des Urins sich eine der Serumlabilität entsprechende Reaktion erreichen ließ. Durch diesen einfachen Weg also können die Inhibitoren bei erhaltener Enzymaktivität wirksam entfernt werden. HAUTMANN (17) verfeinerte diese Methode in eigenen Versuchen dadurch, daß er destilliertes Wasser anstelle des sonst verwendeten Leitungswassers zur Dialyse nahm. Dadurch konnte er eine verschiedentliche Trübung und Ausflockung des Urins verhindern. Weiterhin stellte HAUTMANN fest, daß höhere Enzymaktivitäten gemessen werden konnten, wenn der Dialyseschlauch nicht prall mit Urin gefüllt war, sondern nur eben die Innenwände mit Urin benetzt waren. Denn die Inhibitoren können hierdurch auf erheblich kürzerer Diffusionsstrecke in die Dialyseflüssigkeit diffundieren.

Alle Analysen erfolgten unmittelbar nach der Miktion. Nach der Messung des Gesamtvolumens des 8-Stunden-Nachturins wurde eine Probe daraus 20 Minuten lang bei 5000 U/min. zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden vorsichtig und ohne Zellmaterial aufzuwirbeln 3 ml Urin abpipettiert und anschließend in einem gut verknoteten Dialysierschlauch von 15 cm Länge und 20 mm Durchmesser abgefüllt. Dieser Schlauch war vor den Versuchen in destilliertem Wasser aufgekocht und in aqua dest. aufbewahrt worden. Nach dem Ausstreifen der Luftblasen wurde der Dialysierschlauch mit einem Doppelknoten verschlossen. Vor und nach der Dialyse wurde das Gewicht des außen mit saugfähigem Papier gut abgetrockneten Schlauches bestimmt. Die Dialyse erfolgte über 90 Minuten in destilliertem, ständig bewegtem Wasser bei 12 bis 14° Celsius.

Anschließend wurde der so präparierte Urin nach folgender Methode untersucht. Von jedem 8-Stunden-Urin wurden jeweils zwei Proben getrennt dialysiert und die Enzymaktivität im Doppelversuch ermittelt.

b) Bestimmung der Lactatdehydrogenase im Urin (U-LDH)

Die LDH ist ein Ferment des Kohlenhydratstoffwechsels und besitzt die Fähigkeit, Pyruvat bei Gegenwart des Co-Enzyms DPN-H zu Lactat zu katalysieren.

$$\text{Pyruvat} + \text{DPN-H} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Lactat} + \text{DPN}^+$$

Der DPN-H-Verbrauch ist proportional dem gebildeten Lactat und als photometrisch bestimmbare Meßgröße für die LDH-Aktivität verwendbar. Gemessen wurde bei einer Wellenlänge von 366 nm (Photometer Eppendorf).

Die Bestimmung wurde mit den Testkombinationen der Firma Boehringer und Söhne G. m. b. H., Mannheim-Waldhof (Kennzeichen TC-G II Ar.-Nr. 15984) nach der dort für Serum angegebenen Methodik durchgeführt. Anstelle der in der Testvorschrift angegebenen Serummenge von 0,1 ml wurde die gleiche Menge dialysierten Urins im Ansatz verwendet.

c) Bestimmung der Leucinaminopeptidase im Urin (U-LAP)

NAGEL et al. (27) konnten zeigen, daß die Reaktionen der Spaltung von L-Leucin-ß-naphthylamid und L-Leucin-p-nitranilid durch die Leucin-Arylamidase praktisch identisch sind. Deshalb kann das sehr viel einfacher zu handhabende Substrat L-Leucin-p-nitranilid anstelle von L-Leucin-ß-naphthylamid eingesetzt werden. L-Leucin-p-nitranilid wird durch die LAP in Leucin und p-Nitranilin gespalten. Die nach einer bestimmten Zeit freigesetzte p-Nitranilin-Menge ist proportional der LAP-Aktivität und kann auf Grund der gelben Farbe bei 405 nm bestimmt werden. Da bisher keine Störanfälligkeiten gegenüber Begleitsubstanzen oder durch Inhibitoren durch BERGMANN (5) festgestellt werden konnten, braucht der Urin nicht dialysiert zu werden. Zur Bestimmung diente die Biochemica-Testkombination der Firma Boehringer und Söhne, Mannheim (Kennwort TC-LAP Art.-Nr. 15952). Damit kann im Serum und im Urin die LAP untersucht werden.

d) Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Urin (U-AP)

Phosphatasen katalysieren die Hydrolyse von Phosphorsäureestern. Bei der Phosphatasenbestimmung dient p-Nitrophenylphosphat als Substrat, das durch die Enzymwirkung in p-Nitrophenol und Phosphorsäure gespalten wird. Durch Zugabe von Natronlauge wird die Reaktion unterbrochen und das freigesetzte p-Nitrophenol in das gelb gefärbte Anion übergeführt, das sich photometrisch bei 405 nm bestimmen läßt. Die Menge des in der Zeiteinheit freigesetzten p-Nitrophenols ist der Phosphataseaktivität direkt proportional.

Prinzipiell liegt nach den Beobachtungen von AMADOR, WACKER et al. (1) ein gleiches Verhalten vor wie bei der U-LDH. Ihnen gelang es nachzuweisen, daß im dialysierten Urin die AP-Aktivität dem Urinvolumen direkt proportional ist. Für ihre Messung diente die Biochemica-Testkombination der Firma Boehringer und Söhne, Mannheim (Alkalischer Phosphatase-Farbtest TC-AP Art.-Nr. 15987).

3. Berechnung der Enzymaktivitäten

Infolge der Dialyse nimmt das Gewicht des Dialyseschlauches um den Faktor 1,1 - 1,2 zu.

$$Q = \frac{\text{Gewicht nach der Dialyse}}{\text{Gewicht vor der Dialyse}}$$

Die Gesamtaktivität des 8-Stunden-Nachturins berechnet sich nach folgender Formel:

$$A = Q \cdot s \cdot V$$

wobei
- A = Gesamtaktivität
- Q = Dialysequotient
- a = Enzymaktivität in mU/ml
- V = Volumen des 8-Stunden-Nachturins

bedeuten.

Eine Einheit (U) ist die Enzymmenge, die bei der vorgegebenen Temperatur 1 µMol Substrat in 1 min umsetzt. 1 mU = 0,001 U.

Da für die Bestimmung der U-LAP keine vorherige Dialyse erforderlich ist, ergibt sich für diese Enzymaktivität folgende Formel:

$$A = a \cdot V$$

III. ERGEBNISSE

Die Meßergebnisse der beiden getesteten Analgetika, Phenacetin und Acetylsalicylsäure, wurden nacheinander ausgewertet und dann miteinander verglichen. Für jede Versuchsreihe wurde ein neuer Leerwert bestimmt. Da die Variationsbreite der Meßergebnisse zu groß war, legten wir nicht einen Mittelwert der zehn untersuchten Probanden zugrunde, sondern behielten die individuellen Leerwerte bei. Die in Spalte II der folgenden Tabellen aufgeführten Werte stellen die Maximalwerte der Meßergebnisse dar. Für die statistische Auswertung verwendeten wir die Formeln zur Prüfung von Paardifferenzen.

Dabei bedeuten:

die mittlere Standardabweichung: $\sigma = \frac{(x - \bar{x})^2}{n - 1}$

Zahl der Probanden = n

Mittelwert der Paardifferenzen = $\bar{x}$

der mittlere Fehler des Mittelwertes: $\sigma_{\bar{x}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

der Prüfquotient t = $\frac{\bar{x} \cdot \sqrt{n}}{\sigma}$

Bei den Versuchsreihen wurden jeweils 10 Normalpersonen untersucht. Deshalb gilt für $f = n - 1 \leq 200$ die Studentverteilung.

p bedeutet die Irrtumswahrscheinlichkeit, die mit Hilfe des gewonnenen t-Wertes in der Studentverteilung nachgeschlagen werden kann.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Phenacetin)	II - I = x
1	510,4	903,2	+ 392,8
2	760,5	929,0	+ 168,5
3	462,1	1079,1	+ 617,0
4	343,7	672,3	+ 328,6
5	452,5	1065,0	+ 612,5
6	725,1	1634,8	+ 907,7
7	331,5	1258,6	+ 927,1
8	499,6	823,3	+ 323,7
9	351,7	785,4	+ 433,7
10	381,0	717,2	+ 336,2
	$\bar{x}_1$ = 481,8	$\bar{x}_2$ = 986,8	$\bar{x}$ = + 505,0

Meßreihe 1: U-AP-Ausscheidung nach Gabe von Phenacetin (alle Werte sind in mU/ml angegeben)

Bei allen Probanden ist ein Anstieg der Enzymaktivität um durchschnittlich 105 % zu beobachten.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Phenacetin)	II - I = x
1	1148,2	1497,2	+ 349,0
2	680,5	915,1	+ 234,6
3	695,1	974,0	+ 278,9
4	297,5	750,3	+ 452,8
5	465,0	744,6	+ 279,6
6	1362,5	2747,7	+ 1385,1
7	617,4	1950,0	+ 1332,6
8	465,5	895,2	+ 429,7
9	394,0	728,4	+ 334,4
10	537,5	819,0	+ 281,5
	$\bar{x}_1$ = 666,3	$\bar{x}_2$ = 1202,1	$\bar{x}$ = + 535,8

Meßreihe 2: U-LAP-Ausscheidung nach Phenacetingaoe (angegeben in mU/ml)

Der durchschnittliche Aktivitätsanstieg beträgt 80 % bei allen Probanden.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Phenacetin)	II - I = x
1	2790, 1	5005, 2	+ 2215, 1
2	2415, 5	4481, 3	+ 2065, 8
3	1550, 0	2652, 1	+ 1102, 1
4	717, 5	2243, 6	+ 1526, 1
5	1110, 6	2312, 0	+ 1201, 4
6	3475, 2	4270, 2	+ 795, 0
7	2273, 0	6475, 0	+ 4202, 0
8	1870, 5	3627, 4	+ 1756, 9
9	2385, 7	4295, 1	+ 1906, 4
10	2140, 3	3954, 7	+ 1814, 4
	$\bar{x}_1$ = 2072, 8	$\bar{x}_2$ = 3931, 3	$\bar{x}$ = + 1858, 5

Meßreihe 3: U-LDH-Aktivität nach Gabe von Phenacetin (angegeben in mU/ml)

Der Aktivitätsanstieg beträgt durchschnittlich 90 % bei den zehn Probanden.

	U-AP	U-LAP	U-LDH
n	10	10	10
$\bar{x}_1$	482	666	2073
$\bar{x}_2$	987	1202	3932
$\bar{x}$	505	536	1859
σ	$\pm$ 256	$\pm$ 497	$\pm$ 945
$\sigma_{\bar{x}}$	$\pm$ 81	$\pm$ 157	$\pm$ 298
t	6, 24	3, 41	6, 23
p	0, 001	0, 0075	0, 001
$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	424-586	379-693	1560-2156

Tabelle 1: Statistische Auswertung der Meßergebnisse

Bei allen drei Fermenten ist eine Steigerung ihrer Ausscheidung nach Phenacetinapplikation zu erkennen. Die Befunde sind im einzelnen signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit

von weniger als 0, 1 % bei U-AP

von weniger als 0, 75 % bei U-LAP

von weniger als 0, 1 % bei U-LDH.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Aspirin)	II - I = x
1	436, 7	548, 0	+ 111, 3
2	363, 6	915, 2	+ 551, 6
3	480, 4	610, 5	+ 130, 1
4	263, 0	591, 0	+ 328, 0
5	311, 0	545, 9	+ 234, 9
6	658, 4	755, 7	+ 97, 3
7	566, 2	828, 0	+ 261, 8
8	353, 5	552, 2	+ 198, 7
9	388, 2	599, 4	+ 211, 2
10	413, 5	839, 7	+ 426, 2
	$\bar{x}_1$=423, 4	$\bar{x}_2$=678, 5	$\bar{x}$=+255, 1

Meßreihe 4: U-AP-Aktivität nach Gabe von Acetylsalicylsäure (alle Werte sind angegeben in mU/ml)

Bei allen zehn Probanden ist eine durchschnittliche Steigerung von 60% zu erkennen.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Aspirin)	II - I = x
1	681, 3	777, 6	+ 96, 3
2	865, 6	822, 2	- 43, 4
3	875, 9	1350, 0	+ 474, 1
4	450, 9	618, 2	+ 167, 3
5	371, 3	751, 7	+ 380, 4
6	627, 4	645, 5	+ 18, 1
7	807, 3	723, 1	- 84, 2
8	399, 6	631, 8	+ 232, 2
9	870, 8	1093, 5	+ 222, 7
10	441, 5	756, 0	+ 314, 5
	$\bar{x}_1$ = 639, 1	$\bar{x}_2$ = 816, 9	$\bar{x}$ = + 177, 8

Meßreihe 5: U-LAP-Aktivität nach Gabe von Acetylsalicylsäure (angegeben in mU/ml)

Bei zwei Probanden konnte keine Aktivitätssteigerung gemessen werden. Bei einem Probanden lag der Wert im Normbereich, bei dem anderen war zum Zeitpunkt des zu erwartenden Anstiegs eine leichte Aktivitätsverminderung zu beobachten. Während bei Phenacetingabe die Maximalwerte erst nach 12 bis 15 Stunden zu messen waren, traten diese nach der Gabe von Acetylsalicylsäure schon im ersten 8-Stunden-Urin auf. Die Aktivitätszunahme war geringer und betrug 25 %.

Lfd. Nr.	I (Leerwert)	II (nach Aspirin)	II - I = x
1	1076, 6	3112, 1	+ 2035, 5
2	3295, 7	5465, 0	+ 2169, 3
3	1417, 0	3556, 0	+ 2139, 0
4	1106, 1	3180, 0	+ 2073, 9
5	3347, 9	3710, 4	+ 362, 5
6	2983, 8	4456, 4	+ 1472, 6
7	1173, 5	2635, 8	+ 1462, 3
8	1403, 0	5960, 0	+ 4557, 0
9	1441, 8	3551, 0	+ 2109, 2
10	1759, 6	3745, 2	+ 1985, 6
	$\bar{x}_1$ = 1900, 5	$\bar{x}_2$ = 3937, 2	$\bar{x}$ = + 2036, 7

Meßreihe 6: U-LDH-Aktivität nach Gabe von Acetylsalicylsäure (angegeben in mU/ml)

Die durchschnittliche Steigerung der Aktivitäten beträgt 107%.

	U-AP	U-LAP	U-LDH
n	10	10	10
$\bar{x}_1$	423	639	1900
$\bar{x}_2$	678	817	3937
$\bar{x}$	255	178	2037
σ	$\pm$ 147	$\pm$ 151	$\pm$ 985
$\sigma_{\bar{x}}$	$\pm$ 47	$\pm$ 48	$\pm$ 312
t	9,08	3,42	6,52
p	0,001	0,002	0,001
$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	208-302	130-222	1725-2349

Tabelle 2: Statistische Werte der Urinfermente nach Gabe von Acetylsalicylsäure

Auch nach Applikation von Acetylsalicylsäure ist eine gesteigerte Ausscheidung aller drei Fermente im Urin sichtbar. Die Befunde sind im Einzelnen signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit

von weniger als 0,1 % bei U-AP

von weniger als 0,2 % bei U-LAP

von weniger als 0,1 % bei U-LDH.

	Leerwerte	Werte nach Phenacetingabe	Werte nach Acetylsalicylsäuregabe
U-AP	453 $\pm$ 155	987 $\pm$ 290	679 $\pm$ 141
	298 - 608	697 - 1277	538 - 820
U-LAP	653 $\pm$ 338	1202 $\pm$ 582	817 $\pm$ 238
	315 - 991	620 - 1784	579 - 1055
U-LDH	1987 $\pm$ 808	3931 $\pm$ 1307	3937 $\pm$ 1055
	1179 - 2795	2624 - 5238	2882 - 4992

Tabelle 3: Vergleich der Werte mit Normbereich vor und nach der Belastung

Werden nun die beiden Meßreihen von Phenacetin und Acetylsalicylsäure miteinander verglichen, so zeigt sich eine signifikante Differenz

in den Mittelwerten bei AP und LAP. Die Steigerung der AP- und LAP-Ausscheidung nach Phenacetin ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 2% bzw. 2,5% signifikant höher gegenüber der Ausscheidung nach Acetylsalicylsäure. Bei der LDH-Ausscheidung zeigt sich nur eine geringe Differenz der Mittelwerte, deren Irrtumswahrscheinlichkeit mehr als 10% beträgt.

	U-AP	U-LAP	U-LDH
σ_d	93,4	147	431,5
t	2,68	2,5	0,41

An Hand der graphischen Darstellung zeigt sich bei einem direkten Vergleich beider Analgetika, daß nach Gabe von Acetylsalicylsäure die Fermentaktivitäten sofort ansteigen und das Maximum der Fermentwerte nach den ersten acht Stunden erreicht wird. Schon wenige Stunden später kommt es zu einem deutlichen Abfall der U -AP und U-LAP in den Normbereich, während die U-LDH nur langsam und stufenweise wieder absinkt. Nach Applikation von Phenacetin steigen die Fermentaktivitäten verzögert an, der Maximalwert wird nach achtzehn Stunden erreicht. Dafür fallen die Fermentwerte jedoch schneller wieder ab. Weiterhin liegen die Maximalwerte für die U -AP und U -LAP wesentlich höher, während die Höchstwerte für U -LDH keinen signifikanten Unterschied gegenüber der Belastung nach Acetylsalicylsäure ergeben.

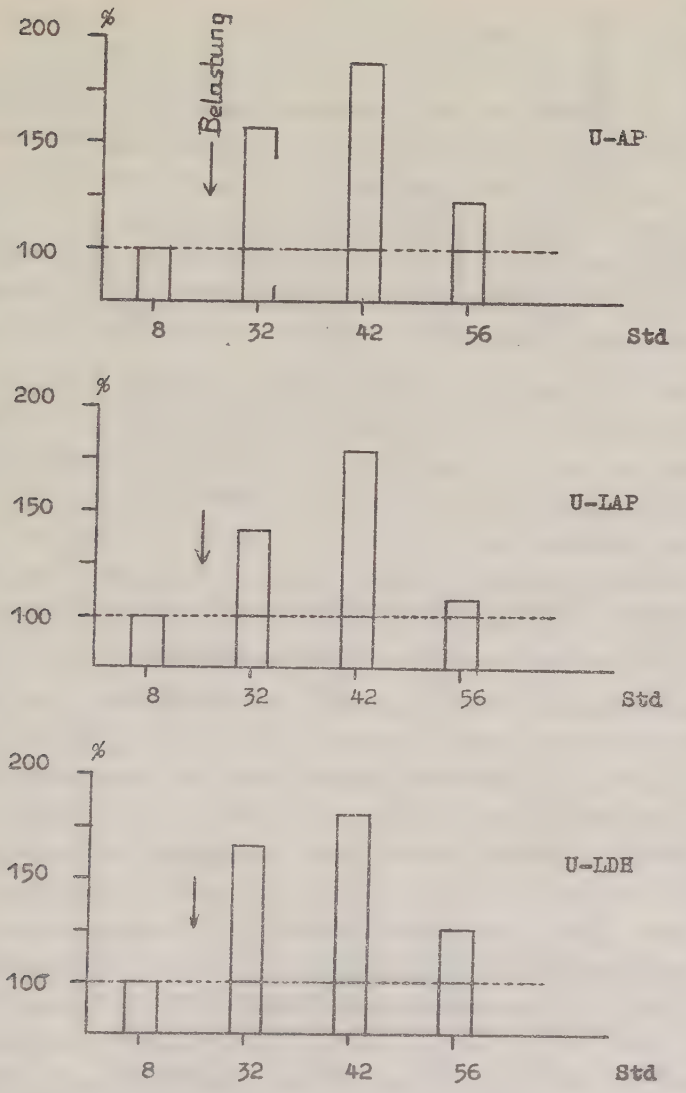

Abbildung 1: Verlauf der Enzymaktivitäten U-AP, U-LAP und U-LDH nach Gabe von Phenacetin. Die Fermentaktivitäten sind in Prozent der Norm aufgetragen. 100% ist der arithmetische Mittelwert der Leerwerte.

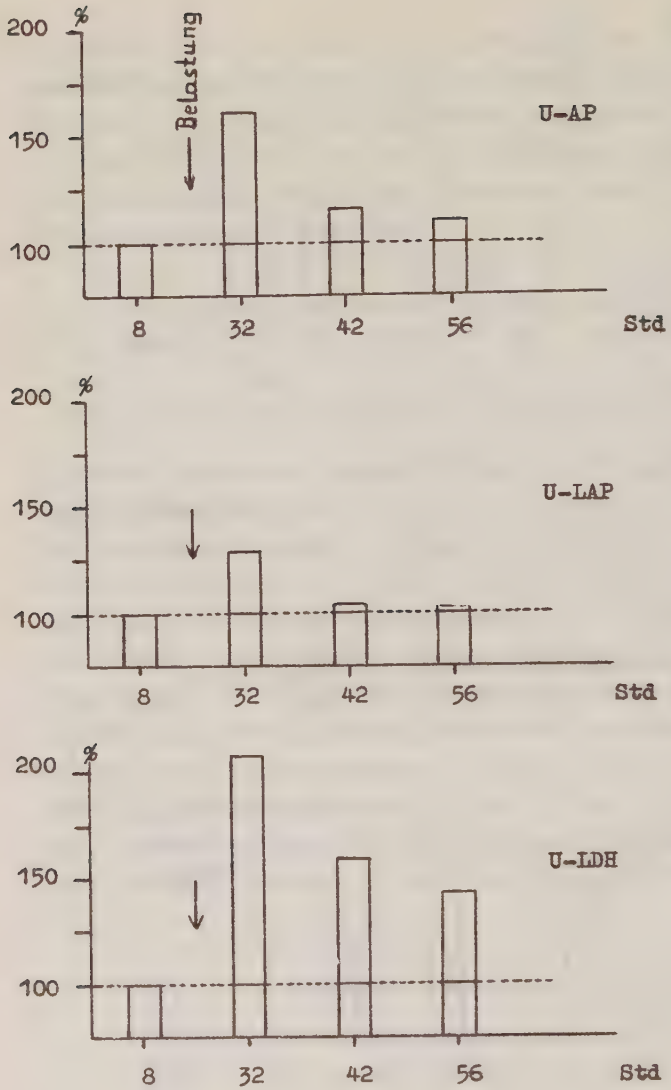

Abbildung 2: Verlauf der Enzymaktivitäten U-AP, U-LAP und U-LDH nach Gabe von Acetylsalicylsäure. Die Fermentaktivitäten sind in Prozent der Norm aufgetragen. 100% ist der arithmetische Mittelwert der Leerwerte.

IV. DISKUSSION

Während die Enzymologie des Serums in den letzten 20 Jahren einen steilen Aufstieg erfahren hat und wir sogar in der Lage sind, die Enzymmuster in Organpunktaten mit großer Genauigkeit zu bestimmen, ist die Enzymologie des Urins noch in den Anfängen. In dieser Arbeit wurde das Verhalten der Urinfermente alkalische Phosphatase, Leucinaminopeptidase und Lactatdehydrogenase bei nierengesunden Personen nach Applikation der Analgetika Phenacetin und Acetylsalicylsäure untersucht.

Die Niere ist ein äußerst stoffwechselaktives und damit fermentreiches Organ. Dies beweist bereits die Tatsache, daß sie pro Gewichtseinheit den höchsten Sauerstoffverbrauch aller Organe aufweist. Wie eingehende Untersuchungen gezeigt haben, findet sich der größte Fermentreichtum im Tubulusapparat (22). Der proximale Tubulus wird als physiologisch und pathologisch wichtigster Teil des Kanälchensystems der Niere angesehen. Sein Epithel reagiert besonders empfindlich auf nephrotoxisch wirkende Einflüsse von außen.

Von den im Urin untersuchten Enzymen ist die Leucinaminopeptidase (LAP) ein bisher sehr ungenau definiertes Enzym, das zur Gruppe der Aminopeptidasen, also einem Gemisch von Enzymen mit geringer Substratspezifität, gehört. Das Molekulargewicht wird ungefähr mit 300 000 angegeben (SPACKMAN, SMITH und BROWN). Aus histochemischen Untersuchungen ist bekannt, daß die LAP in der Niere ausschließlich im lumennahen Zytoplasma der Zellen des proximalen Tubulus vorkommt. In Homogenaten findet sie sich vorwiegend in der Mikrosomenfraktion (BERGMANN). MATTENHEIMER allerdings konnte mit der quantitativen, sehr viel empfindlicheren Methode eine Aktivität in allen Zonen nachweisen, wobei das Maximum der Ausscheidung im proximalen Tubulus liegt. Die im Harn gemessene LAP-Aktivität kann als weitgehend "nierenspezifisch" angesehen werden, da aus anderen Quellen - Eiweiß des Serums, Erythrocyten, Leucocyten - wenn überhaupt, so doch auf jeden Fall nur unbedeutende Mengen dieses Fermentes stammen (4).

Die alkalische Phosphatase (AP) ist überwiegend ebenfalls im proximalen Tubulus lokalisiert (zu etwa 72 % nach MATTENHEIMER), und zwar im Bürstensaum dicht an der Zellmembran. Ihr Molekulargewicht liegt zwischen 60 000 und 80 000.

Neben Gehirn, Herzmuskel und Fettgewebe ist die Niere sehr reich an Lactatdehydrogenase (LDH). Hier findet sie sich vor allem in den proximalen Tubuli und in den Sammelrohren. Mit einem Molekulargewicht von ungefähr 140 000 ist das Ferment als Globulin nicht nierengängig.

Diese Fermente sind infolge der physiologischen Zellmauserung beim Gesunden in geringer Menge nachweisbar (KLAUS, POJER). Bei einer Zellschädigung können die Fermente leicht in den Urin übertreten. Somit müßte theoretisch jede den proximalen Tubulus treffende und zu einer Permeabilitätsstörung der Zellmembran führende akute Schädigung zu einer vermehrten Ausschüttung aller drei Fermente führen. Durch den hohen Enzymgehalt im Zellinneren und die geringen Enzymmengen im extrazellulären Raum entsteht ein erhebliches Konzentrationsgefälle, das durch die Zellmembran aufrecht erhalten wird. Das Erhalten derartiger Konzentrationsgradienten stellt für die Zelle eine Energie verbrauchende Leistung dar. Eine geringe Zunahme der Membranpermeabilität und der daraus resultierende vermehrte Übertritt von Zellenzymen in das Plasma kann bereits im Arbeitsversuch und nach Hypoxietesten beobachtet werden. Stärkere Schäden, die zu einer tiefergehenden Störung des Energiestoffwechsels der Zellen führen, haben auch eine entsprechend gesteigerte Enzymausschüttung zur Folge. Die im Plasma oder anderen Flüssigkeitsräumen außerhalb der Zelle vermehrt auftretenden Enzyme weisen daher auf einen Zellschaden hin und werden dementsprechend als "Indikatorenzyme" bezeichnet. Je nachdem, ob ein Enzym im Zellplasma lokalisiert ist oder eine feste Bindung an Zellstrukturen besitzt, wird es bereits bei geringeren Störungen, stärkeren Schäden oder erst beim Zelltod aus der Zelle austreten können. Durch die intakte Glomerulusmembran können in nennenswerten Mengen nur Enzyme mit einem Molekulargewicht von weniger als etwa 69 000 passieren. Die von uns untersuchten Fermente

liegen mit ihren Molekulargewichten mit Ausnahme der AP deutlich über dieser Schwelle. Die renale Abstammung dieser Fermente ist damit allerdings noch nicht bewiesen. Allein auf Grund des höheren Molekulargewichtes kann man das Serum als Quelle der Fermente im Urin nicht ausschließen. Doch ergaben experimentelle Untersuchungen keine Korrelation zwischen Serum- und Harnfermenten (3). Somit dürfte der Beweis erstellt sein, daß die im Urin vorkommenden Enzyme aus der Niere stammen.

Die Aktivität der U-AP liegt bei uns zahlenmäßig niedriger als die Werte für die U-LDH und U-LAP. Dies entspricht den Erwartungen, die man nach quantitativen histochemischen Untersuchungen (22) dieser Fermente aus dem Nierenpunktat haben kann. DUBACH (13) fand für die Aktivität der U-AP im Nephron nur ein geringes der U-LDH-Aktivität. Zur Messung der U-AP ist ebenso wie für die U-LDH eine Urindialyse notwendig. Deshalb sind vergleichbare Normalwerte nur bedingt brauchbar, da andere Methoden verwendet wurden. DUBACH und PADLINA (12) sowie AMADOR (1) und WACKER (36) fanden für die U-AP wesentlich höhere Werte als für die U-LDH. Bei HAUTMANN (15) und BORNEMANN (7), die mit der gleichen Methode wie der unsrigen die gleichen Fermente untersuchten, liegen ähnliche Meßergebnisse vor wie bei uns. Im Gegensatz zu BORNEMANN, der den Einfluß oraler Gallekontrastmittel auf Urinfermente untersuchte, waren bei uns Aktivitätszunahmen bei allen Probanden meßbar und lagen deutlich höher als die Leerwerte, nach Phenacetin um 105 %, nach Acetylsalicylsäure um 60 %. Bei DUBACH und JÖSCH (11) betrug die Aktivitätszunahme der U-AP nach Gabe von Acetylsalicylsäure bei drei Versuchspersonen über 70 %, während bei einer Versuchsperson eine Zunahme ausblieb. Im Tierversuch an Ratten konnte RAAB ebenfalls stark erhöhte Aktivitäten der U-AP nach hohen Dosen von Acetylsalicylsäure feststellen (29).

Die Aktivitäten der U-LDH zeigen bei uns zahlenmäßig einen deutlich höheren Leerwert als die Werte für U-AP und U-LAP. Das arithmetische Mittel betrug bei zehn nierengesunden Normalpersonen 1987 ± 808 mE/ 8-Stunden-Urin. ROSALKI und WILKINSON (32) ermittelten einen umgerechneten Leerwert von 2666 mE/ 8-Stunden-Urin. HAUTMANN (15) konnte einen Mittelwert von 2008 mE/ 8-Stunden-Urin messen, was ziemlich genau unserer Größenordnung entspricht. Bei BORNEMANN (7) betrugen die Mittelwerte 2759 mE/ 8-Stunden-Urin. Diese liegen noch in unserer Variationsbreite von 1179 bis 2795 mE. Alle diese Ergebnisse finden sich somit in etwa derselben Größenordnung wie die von uns gemessenen. WACKER, AMADOR und DORFMAN ermittelten einen mittleren Leerwert von 1305 mE/8-Stunden-Urin bei einer Streubreite von 555 bis 2050 mE. Eine Proteinurie habe die Aktivität der U-LDH nicht beeinflußt. Im Durchschnitt zeigte die U-LDH von den drei untersuchten Enzymen die größte Aktivitätszunahme nach Applikation von Analgetika. DUBACH und JÖSCH (11) bestätigten ebenfalls eine deutliche Aktivitätszunahme der U-LDH nach Gabe von Acetylsalicylsäure, die im Durchschnitt deutlich höher lag als die Zunahme der U-AP-Aktivität. Mit einer ähnlichen Methode wie der unsrigen konnten PLUMMER und LEATHWOOD eine deutliche Zunahme der U-LDH-Aktivität nach Salicylatgaben ermitteln (26). Im Tierversuch an Ratten konnte auch RAAB (29) eine signifikante Steigerung der U-LDH-Aktivität feststellen. Als Grund nahm er eine toxisch degenerative Wirkung hoher Dosen von Acetylsalicylsäure an.

Für die U-LAP findet man bei ZURWEHME vergleichbare Leerwerte (37). Auf einen 8-Stunden-Urin umgerechnet ermittelte er eine mittlere Aktivität von 1500 mE. Dabei arbeitete er nach der von BERGMANN (4) ausgearbeiteten Methode. JÖSCH und DUBACH fanden einen Mittelwert von 602 mE/ 8-Stunden-Urin (19), BORNEMANN (7) einen Leerwert von 800 mE und HAUTMANN (15) gibt ihn mit 678 mE an. Diese Werte liegen unserem mittleren Leerwert von 653 ± 338 mE sehr nahe. Hinzuzufügen wäre, daß bei unseren Untersuchungen während des ersten Versuchsablaufes mit

Phenacetin der Urin dialysiert wurde, während er nach Applikation von Acetylsalicylsäure nativ verarbeitet wurde. Mit unseren Leerwerten, die mit Dialyse 666 mE, bei nativer Verarbeitung 639 mE betrugen und damit keinen signifikanten Unterschied aufweisen, konnten wir die Angaben von BERGMANN und TRUSS voll und ganz unterstützen, daß im Urin Inhibitoren ausgeschlossen werden können, die auf die U-LAP wirken könnten (3, 5). Im Gegensatz zu ZURWEHME, der nur bei 11 von 59 Patienten eine Aktivitätszunahme beobachten konnte, blieb bei uns nur zweimal bei 20 Normalpersonen eine Fermentzunahme aus. Die Aktivitätszunahme dieses Fermentes war nach Applikation von Acetylsalicylsäure besonders gering. Bei JÖSCH und DUBACH (19) lag nach Gabe von Acetylsalicylsäure die U-LAP-Aktivität innerhalb der Normgrenzen. Auch bei RAAB blieb eine Steigerung der U-LAP nach Gabe von Acetylsalicylsäure aus. Die antifibrinolytische Wirkung der Acetylsalicylsäure verhindere die Aktivierung renaler Peptidasen, wie zum Beispiel die der U-LAP. Aus diesem Grunde sei trotz der Permeabilitätsstörungen an den Tubuluszellen und der Desquamation zahlreicher Nierenzellen keine signifikante U-LAP-Aktivitätssteigerung nachweisbar gewesen.

Bei einem Vergleich beider Analgetika zeigt sich, daß nach Gabe von Acetylsalicylsäure die Ausscheidung aller drei Fermente zeitlich schneller erfolgt. Dagegen lagen nach Applikation von Phenacetin die Maximalwerte für die U-AP und U-LAP wesentlich höher, während die Maximalwerte der U-LDH keinen signifikanten Unterschied ergaben. Acetylsalicylsäure führt zu einer schneller eintretenden, jedoch nicht so massiven Störung der proximalen Tubuluszellen. Der Wirkungseintritt des Phenacetins erfolgt langsamer, dann aber eingreifender und intensiver.

Bei Nierengesunden kann also ein Aktivitätsanstieg höhermolekularer Urinenzyme nach Verabreichung eines Medikamentes auf dessen nierenreizende oder nierenschädigende Wirkung hinweisen. Die weitere Abklärung der Bedeutung von Enzymbestimmungen im Urin zum Nachweis renaler Einwirkung von Medikamenten erscheint angezeigt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungen hatten zum Ziel, durch experimentell erzeugte Nierenschädigung die klinische Beobachtung zu belegen, daß tubuläre Läsionen zu einer vermehrten Ausscheidung der im proximalen Tubulus lokalisierten Fermente im Harn führen. Wir untersuchten die Fermente U-AP, U-LAP und U-LDH nach Applikation der Analgetika Phenacetin und Acetylsalicylsäure bei je zehn nierengesunden Normalpersonen im Alter von 20 bis 30 Jahren.

Nach Applikation von Phenacetin und Acetylsalicylsäure war eine signifikante Steigerung aller drei untersuchten Fermente gegenüber den Normalwerten zu beobachten.

Vergleicht man beide Analgetika miteinander, so zeigte sich nach Gabe von Phenacetin eine signifikante Steigerung der U-AP und U-LAP gegenüber den Ergebnissen nach Gabe von Acetylsalicylsäure, während die Werte für die U-LDH nach Salicylatapplikation zwar höher lagen, aber keinen signifikanten Unterschied ergaben.

Die untersuchten Fermente werden nicht glomerulär filtriert. Sie finden sich jedoch in hoher Konzentration in den Epithelzellen der proximalen Tubuluszellen. Bei tubulären Zellstörungen, wie wir sie mit der Gabe von Analgetika provozierten, können sie daher direkt in den Harn übertreten. Ihr Erscheinen kann somit als ein Indikator für eine proximale Tubulusschädigung angesehen werden.

Herrn Privatdozenten Dr. med. W. Strik möchte ich ganz herzlich danken für die Überlassung des Themas und die vielen wertvollen Ratschläge.

Herrn Professor Dr. med. H. Franke darf ich für die Möglichkeit, die Untersuchungen an seiner Klinik durchzuführen sowie für die Übernahme des Korreferate danken.

Danken möchte ich Herrn Dr. med. E. Ruhl , daß er mich auf dieses Thema hingewiesen und mir seine stete Bereitschaft zu Gesprächen und Ratschlägen gezeigt hat.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. AMADOR, E. L. E. DORFMANN, W. E. C. WACKER: Urinary Alkaline Phosphatase and LDH-activities in the Differential diagnosis of Renal Disease. Ann. int. Med. 62: 30/40 (1965)

2. AMELUNG, D., H. D. HORN, E. SCHRÖDER: Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Frage der Ferment-Elimination aus dem Serum. Klin. Wschr. 36: 963 (1958)

3. BERGMANN, H., S. ESTRICH, F. SCHELER, M. SCHMIDT: Die Leucinaminopeptidase im Harn, ein nierenspezifisches Enzym? Ärztl. Lab. 9: 255/60 (1963)

4. BERGMANN, H., F. SCHELER: Der Nachweis tubulärer Funktionsstörungen der Niere durch Bestimmung der Aminopeptidase-Aktivität im Harn. Klin. Wschr. 42: 275/79 (1964)

5. BERGMANN, H., F. TRUSS: Harnenzyme als Indikator tubulärer Nierenschäden. Med. Welt 34: 1760/64 (1964)

6. BOGATZKI, M.: Protein- und Fermenturie bei experimenteller kompensatorischer Nierenhypertrophie und experimentellem renalen Hochdruck. Fortschr. Med. 83: 859/63 (1965)

7. BORNEMANN, H.: Das Verhalten der Urinenzyme nach oraler Cholecystographie. Inaugural-Dissertation Würzburg 1969

8. DORFMANN, L. E., E. AMADOR, W. E. C. WACKER: Urinary lactic dehydrogenase activity J. Amer. Ass. 184: 1 (1963)

9. DUBACH, U. C.: Quantitative Histochemie des menschlichen Nephrons. Klin. Wschr. 43: 753/58 (1965)

10. DUBACH, U. C.: Fortschritte und praktische Grenzen der Fermentdiagnostik. Med. Prax. 35: 870 (1962)

11. DUBACH, U. C., W. JÖSCH: Urinenzyme nach medikamentöser Nierenreizung durch Salicylat. Schweiz. Med. Wschr. 97: 1314/16 (1967)

12. DUBACH, U. C., G. PADLINA: Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Urin. Klin. Wschr. 44: 180/86 (1966)

13. DUBACH, U. C., R. REDIGER: Die Lactatdehydrogenase-Aktivität im Urin bei urologischen und medizinischen Krankheiten. Urol. int. 17: 65/83 (1964)

14. GOLISCH, G.: Die LAP-Aktivität im Harn von Patienten mit malignen Tumoren. Klin. Wschr. 38: 968 (1960)

15. HAUTMANN, R.: Die Ausscheidung der Fermente Lactatdehydrogenase, Leucinaminopeptidase und alkalischen Phosphatase im Harn bei Pyelonephritis. Inaugural-Dissertation Würzburg 1969

16. HECKMANN, U.: Quantitatives enzymatisches Verfahren zur Resistenztestung benigner und maligner Gewebe gegen Zytostatika in der Gewebekultur. Med. Welt 12: 743/46 (1968)

17. HEIDLAND, A., K. KLÜTSCH, M. SPALL, H. FROHWEIN: Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur Phenacetinniere. Med. Welt 15: 1012/17 (1964)

18. HOHENEGGER, M., E. KAISER: Tagesrhythmische Ausscheidung der alkalischen Harnphosphatase. Klin. Wschr. 45: 1023/25 (1967)

19. JÖSCH, W., U. C. DUBACH: Urin-Arylamidase. Z. klin. Chem. 5-6: 59/63 (1967/68)

20. JÖSCH, W., U. C. DUBACH, M. STROBEL: Der Einfluß des Urin-pH auf die Aktivität von Urinenzymen. Exper. 23-25: 342/43 (1967)

21. KLAUS, D.: Renale Fermentausscheidung bei Proteinurie. Klin. Wschr. 36: 207 (1958)

22. MATTENHEIMER, H.: Der Aussagewert von Enzymbestimmungen im Urin. Aktuelle Probleme in der klinischen Biochemie Band 1

23. MATTENHEIMER, H.: Enzymbestimmungen im Urin als diagnostisches Hilfsmittel. Dtsch. Med. Wschr. 92: 2075/76 (1967)

24. MATTENHEIMER, H., V. E. POLLAK, R. C. MUERHCKE, R. M. KARK: Quantitative Enzymverteilungsmuster im Nephron. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 70: 579 (1964)

25. NAGEL, W., F. WILLIG, F. H. SCHMIDT: Klin. Wschr. 42: 447 (1964)

26. PLUMMER, D. T., P. D. LEATHWOOD: The Effect of Salicylate on Urinary Lactat Dehydrogenase. Biochem. Journ. 8: 55/56 (1966)

27. PASTERNAK, A.: Alkaline phosphatase in urine. Scand. J. clin. Lab. Invest. 16: 145 (1964)

28. RAAB, W.: Analgetika und renale Enzymausscheidung: Harnenzymaktivität bei Ratten nach Verabreichung von hohen Dosen Acetylsalicylsäure. Clin. Chin. Acta 22: 535/43 (1968)

29. RAAB, W.: Experimentelle Untersuchungen zur Steigerung der Lactatdehydrogenase-Aktivität des Harnes. Exper. 23: 833 (1967)

30. RAAB, W.: Acetylsalicylic acid and the Kidneys. Helv. Med. Act. 34: 67/68 (1967)

31. RINGDAL-KAISER, E.: Lactatdehydrogenase im Urin. Helv. Med. Act. 6: 23/24 (1966)

32. ROSALKI, S. B., J. H. WILKINSON: Urinary Lacticdehydrogenase in renal disease. Lancet 1959/II 327/28

33. ROSENBAUM, R. M.: The intracellulär Lokalisation of enzyms. Handbuch der Histochemie B. III, 4. Teil

34. SARRE, H.: Nierenkrankheiten: Phenacetinabusus und Nierenschädigung. Thieme-Verlag Stuttgart

35. WACKER, W. E. C., E. AMADOR, L.E. DORFMAN, TH. S. ZIMMERMANN: Eine Methode zur Bestimmung und diagnostischen Anwendung der LDH- und alkalischen Phosphatase im menschlichen Urin. Ärztl. Lab. 11: 204/13 (1965)

36. ZURWEHME, D.: Ausscheidung der Aminopeptidase im Harn nach intravenöser Gabe von Röntgenkontrastmitteln. Med. Klin. 61: 1458 (1966)

Lebenslauf

Am 24. Oktober 1942 wurde ich als Sohn des Facharztes Dr. Johannes Frenzel und seiner Ehefrau Elsbeth, geb. Meier in Bayreuth geboren.

Ich besuchte dort auch die Volksschule und ging nach fünf Grundschuljahren auf das humanistische Gymnasium, wo ich im Juli 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im WS 1963 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität zu Erlangen und legte im SS 1966 die ärztliche Vorprüfung ab. Danach wechselte ich an die Universität Würzburg und legte hier im Dezember 1969 die ärztliche Prüfung ab.

Im März 1970 trat ich meine erste Stelle als Medizinalassistent an und blieb sechs Monate auf der chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Bayreuth. Anschließend wechselte ich auf die innere Abteilung des gleichen Hauses über und arbeite nun seit Mai 1971 als Assistent auf der inneren Abteilung.

Seit dem 10. September 1971 bin ich mit Dr. Margarethe Frenzel, geb. Endres verheiratet.

Thomas Frenzel